

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Pendekatan dan Jenis Penelitian

Pendekatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pendekatan kuantitatif. Penelitian yang dilakukan termasuk dalam penelitian eksperimen dengan jenis penelitian eksperimen murni atau sesungguhnya (*true experiment*). Rancangan penelitian eksperimen yang digunakan yaitu *The Posttest Only Control Group Design* karena ada randomisasi dan kelompok kontrol, pada kelompok kontrol tidak diberi perlakuan tetapi tetap dilakukan pengukuran.

3.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang dan dilaksanakan selama 3 minggu pada tanggal 2-22 Agustus 2018.

3.3 Populasi, Teknik Sampling dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah semua tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) umur 3 bulan dengan berat badan sekitar 120-150 gram.

3.3.2 Teknik Sampling

Teknik pengambilan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah *simple random sampling* (acak sederhana) yaitu teknik pengambilan sampel dengan cara acak sehingga setiap satuan sampling yang ada dalam populasi mempunyai peluang yang sama untuk dipilih menjadi sampel.

3.3.3 Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang didapatkan di penjual tikus Hewan Uji Coba daerah Singosari-Malang. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini dihitung menggunakan rumus sebagai berikut.

$$(r-1)(t-1) \geq 15$$

Keterangan:

r = jumlah ulangan (*replikasi*)

t = banyak kelompok perlakuan (*treatment*)

Ukuran sampel pada penelitian ini yaitu:

$$(r-1)(t-1) \geq 15$$

$$(r-1)(5-1) \geq 15$$

$$(r-1)(4) \geq 15$$

$$(r-1) \geq 15/4$$

$$(r-1) \geq 3,75$$

$$r \geq 3,75+1$$

$$r \geq 4,75 = 5$$

Keterangan:

$t = 5$, $r = 5$, n = besar sampel minimum

$$n = t \times r$$

$$n = 5 \times 5$$

$$n = 25$$

Berdasarkan hasil perhitungan rumus di atas diketahui jumlah minimal tikus yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 25 ekor tikus yang dibagi dalam 5 kelompok, 3 kelompok perlakuan 2 kelompok kontrol (kontrol positif dan negatif) dengan jumlah tikus pada masing-masing kelompok adalah 5 ekor tikus.

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Jenis Variabel

Jenis variabel dalam penelitian ini yaitu:

a. Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahan pada variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian berbagai konsentrasi gel daun kersen (*Muntingia calabura*).

b. Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat dari adanya variabel bebas. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah penyembuhan luka sayat pada tikus putih dengan pengukuran sekali sehari.

c. Variabel Kontrol

Variabel kontrol adalah variabel yang dapat dikendalikan atau dibuat konstan sehingga hubungan variabel bebas terhadap variabel terikat tidak dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti. Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah jenis tikus, jenis kelamin tikus, usia dan berat badan tikus, kandang, isi tikus per kandang, pakan, air minum, tempat makanan dan minuman.

3.4.2 Definisi Operasional Variabel

- a. Sediaan gel daun kersen pada penelitian ini dibuat dari ekstrak daun kersen yang diekstraksi dengan etanol 96% menggunakan metode maserasi dengan konsentrasi ekstrak daun kersen dalam gel yaitu 10%, 30% dan 50% ditambahkan aquades, metil paraben dan *gelling agent* yaitu karbomer.
- b. Selama 14 hari penyembuhan luka diamati melalui panjang luka sayat dan pengamatan 3 fase penyembuhan luka yaitu: fase inflamasi adanya eritema dan edema jaringan sekitar luka, fase proliferasi adanya granulasi jaringan pada luka, fase maturasi adanya jaringan baru dan luka kering (luka menutup).
- c. Jenis tikus pada penelitian ini adalah tikus putih galur wistar dari spesies *Rattus norvegicus*.
- d. Jenis kelamin tikus yang digunakan adalah tikus putih jantan karena tidak dipengaruhi oleh hormon dan kehamilan.
- e. Usia tikus yang digunakan dalam penelitian ini 3 bulan dengan berat badan sekitar 120-150 gram karena tikus masih dalam usia dewasa muda sehingga proses fisiologis tubuhnya dalam penyembuhan luka juga lebih cepat jika dibandingkan dengan tikus yang sudah tua.
- f. Kandang tikus yang digunakan berupa baskom plastik ukuran $\pm 25 \times 38$ cm yang tingginya ± 13 cm dengan penutup kawat besi yang luasnya sama dengan baskom.
- g. Isi tiap kandang sekitar 3 ekor per kandang.
- h. Pakan yang digunakan untuk tikus dalam penelitian ini adalah pakan BR-1.

- i. Air minum yang digunakan untuk tikus dalam penelitian ini adalah air mineral merk cleo.
- j. Tempat minuman untuk tikus yang digunakan berupa botol dot yang dirancang khusus untuk hewan peliharaan seperti tikus, hamster, marmut atau kelinci.
- k. Tempat makanan untuk tikus yang digunakan berupa mangkok kecil.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Persiapan Penelitian

a. Persiapan Alat

Tabel 3.1 Daftar alat-alat untuk penelitian

Alat	Jumlah
Kandang pemeliharaan	10 buah
Kawat penutup kandang	10 buah
Tempat makanan	10 buah
Tempat minuman	20 buah
Baskom	3 buah
Mortar martil	6 buah
Beker glass 1000 ml	7 buah
Beker glass 600 ml	3 buah
Beker glass 250 ml	3 buah
Beker glass 100 ml	1 buah
Beker glass 50 ml	3 buah
Erlenmeyer 1000 ml	2 buah
Erlenmeyer 250 ml	1 buah
Erlenmeyer vakum	1 buah
Gelas ukur 250 ml	1 buah
Gelas ukur 100 ml	2 buah
Corong kaca	3 buah
<i>Rotary evaporator</i>	1 buah
Batang pengaduk	4 buah
Corong <i>Buncher</i>	1 buah
Timbangan analitik	1 buah
Vakum	1 buah
Hot plate	1 buah
Botol wadah gel	3 buah
Sarung tangan	3 buah
Gunting	2 buah
Silet cukur	3 buah
Silet goal	3 buah
Masker wajah	3 buah

Alat tulis	1 buah
Penggaris	1 buah
Spidol permanent	1 buah

b. Pesiapan Bahan

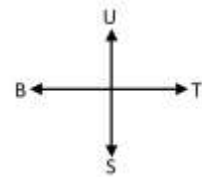
Tabel 3.2 Daftar bahan-bahan untuk penelitian

Bahan	Jumlah
Pakan BR-1	13 kg
Air mineral	2 galon
Sekam	6 kg
Tikus putih jantan	30 ekor
Daun kersen	3 kg
Etanol 96%	8 liter
Aquadest	5 liter
Kertas saring <i>whatman grade 42</i>	2 lembar
Karbomer 0,5%	5 g
Metil paraben 0,02%	3 gr
Kertas label	2 lembar
Alkohol 70%	30 ml
<i>Betadine</i>	1 botol (5 ml)
Kapas	1 Bungkus

3.5.2 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). rancangan ini digunakan untuk penelitian yang lingkungannya memiliki sifat homogen sehingga penempatan setiap unit eksperimen pada petak dilakukan dengan cara acak. Jumlah perlakuan dalam penelitian ini adalah 3 perlakuan (A1: 10%, A2: 30%, A3: 50%) ditambah 2 perlakuan kontrol (kontrol positif: Kp = *Betadine*, kontrol negatif: Kn = tanpa pengobatan) masing-masing menggunakan 5 kali pengulangan. Penempatan setiap unit dipilih secara acak dengan denah sebagai berikut.

A1(1)	A2(4)	Kn(2)	Kp(1)	A2(5)
Kn(1)	A1(2)	A3(5)	A3(4)	Kn(3)
A2(3)	Kn(5)	A1(3)	A2(1)	A3(1)
Kp(3)	A3(2)	Kp(5)	Kn(4)	Kp(4)
A3(3)	A2(2)	Kp(2)	A1(4)	A1(5)



Gambar 3.1 Denah rancangan percobaan

Keterangan:

- A1 : Kelompok perlakuan dengan konsentrasi gel daun kersen 10%
 A2 : Kelompok perlakuan dengan konsentrasi gel daun kersen 30%
 A3 : Kelompok perlakuan dengan konsentrasi gel daun kersen 50%
 Kp : Kelompok kontrol positif dengan *Betadine*
 Kn : Kelompok kontrol negatif tanpa pemberian obat
 1 : Pengulangan ke 1
 2 : Pengulangan ke 2
 3 : Pengulangan ke 3
 4 : Pengulangan ke 4
 5 : Pengulangan ke 5

3.5.3 Pelaksanaan dan Alur Penelitian

1. Pelaksanaan

a. Adaptasi tikus

Tikus dimasukkan ke dalam kandang yang berbentuk bak plastik dan ditutup dengan kawat besi. Kandang diletakkan di ruang kandang laboratorium Kimia Universitas Muhammadiyah Malang. Tikus diadaptasi selama 7 hari dengan tujuan agar tikus dapat menyesuaikan diri terhadap lingkungan yang baru dengan diberi pakan BR-1 setiap 2 kali sehari (pagi & sore).

b. Pembuatan ekstrak daun kersen

Langkah kerja pembuatan ekstrak daun kersen pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Daun kersen yang telah dipilih dicuci sampai bersih dengan air biasa kemudian diangin-anginkan sampai daun kering.
2. Daun kersen yang sudah dicuci kemudian dihaluskan menggunakan tangan.
3. Pembuatan campuran daun kersen dan etanol dengan menambahkan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 50 g daun kersen dan 110 ml pelarut etanol dan diaduk sampai homogen lalu didiamkan selama 24 jam.
4. Campuran selanjutnya disaring menggunakan kertas saring.
5. Larutan ekstrak yang sudah disaring kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kental.

c. Pembuatan sediaan gel daun kersen

Penelitian ini menggunakan empat formula dengan konsentrasi 10%, 30% dan 50% yang dibuat masing-masing 25 g dengan rancangan formula pada Tabel 3.3.

Tabel 3.3 Rancangan formula sediaan gel daun kersen (*Muntingia calabura*)

Bahan	Fungsi	Konsentrasi yang digunakan	Formula		
			10%	30%	50%
Ekstrak daun kersen (ml)	Bahan aktif	-	2,500	7,500	12,500
Karbomer (g)	Basis gel	0,5%	0,125	0,125	0,125
Metil Paraben (g)	Pengawet	0,02%	0,005	0,005	0,005
Aquades (ml)	Pelarut	-	add	add	add

Keterangan: Aquades dimasukkan sampai mencapai 25 g

Langkah kerja pembuatan sediaan gel daun kersen sebagai berikut.

1. Ekstrak daun kersen ditimbang sesuai dengan kebutuhan tiap konsentrasi.
 2. Aquades dipanaskan hingga mendidih kemudian dibiarkan sampai dingin.
 3. Aquades yang sudah dingin dituang ke dalam mortir sebanyak 3 ml kemudian ditambahkan karbomer, diaduk hingga homogen
 4. Campurkan metil paraben ke dalam basis gel yang sudah terbentuk tadi lalu diaduk hingga homogen.
 5. Ekstrak daun kersen yang sudah ditimbang untuk masing-masing konsentrasi kemudian dimasukkan ke dalam campuran yang tadi kemudian diaduk hingga homogen.
 6. Masukkan sediaan ke dalam wadah tertutup rapat.
 7. Sediaan disimpan pada suhu kulkas.
- d. Perlakuan tikus
1. Tikus yang sudah diadaptasi dibagi menjadi 5 kelompok. Masing-masing kelompok diberi kode A1, A2, A3, Kp dan Kn sesuai dengan rancangan percobaan penelitian dan dimasukkan dalam kandang yang berbeda-beda.
 2. Pembuatan luka sayat dilakukan secara bergilir dari kelompok percobaan pertama.
 3. Punggung tikus dibersihkan dari rambut-rambutnya menggunakan pisau cukur dan gunting kemudian diolesi alkohol 70%.
 4. Punggung tikus yang sudah dibersihkan kemudian dilukai menggunakan silet/pisau yang tajam sepanjang 2 cm dengan kedalaman 0,2 cm.

5. Luka yang sudah dibuat kemudian diberi pengobatan menggunakan gel daun kersen dengan konsentrasi 10%, 30% dan 50% sebanyak $\pm 0,1$ g, untuk perlakuan kontrol positif diberi *Betadine*.
6. Pengobatan diberikan 2 kali sehari selama 14 hari.

e. Pengamatan tikus

Pengamatan dilakukan satu kali sehari pada pukul 16.30 WIB selama 14 hari. Pengamatan dilakukan dengan mengamati panjang luka dan mengamati secara makroskopis dengan melihat morfologi dari penyembuhan luka mulai dari pertama dilakukan pembuatan luka sampai luka sembuh dengan melihat 3 fase berikut.

1. Fase inflamasi: adanya eritema dan edema jaringan di sekitar luka
2. Fase proliferasi: adanya granulasi jaringan pada luka
3. Fase maturasi: adanya jaringan parut dan luka kering atau menutup.

2. Alur Penelitian

Alur dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

- 1) Tikus sebanyak 25 ekor diadaptasi dikandang laboratorium selama 7 hari sebelum dilukai.
- 2) Pembuatan sediaan gel daun kersen yang akan digunakan untuk mengobati luka sayat pada tikus putih dengan 3 konsentrasi yaitu 10%, 30% dan 50%.
- 3) Tikus yang sudah diadaptasi dibagi menjadi 5 kelompok yaitu kelompok kontrol positif dan negatif, kelompok perlakuan gel daun kersen 10%, 30% dan 50%, kemudian dilakukan proses penyayatan pada punggung tikus sepanjang 2 cm dengan kedalaman 0,2 cm.

- 4) Melakukan pengobatan pada tiap kelompok tikus yang telah dilukai tiap 2 kali sehari selama 14 hari; kontrol positif diberi obat menggunakan *Betadine*, kontrol negatif tidak diberi pengobatan untuk melihat proses penyembuhan alamiah dari tubuh, kelompok perlakuan masing-masing diberi obat menggunakan gel daun sebanyak $\pm 0,1$ g per olesan sesuai dengan konsentrasi yang sudah dibuat.
- 5) Melakukan observasi luka 1 kali sehari pada sore hari dengan mengukur panjang luka sayat pada tikus dan mengamati eritema, edema, granulasi dan penutupan luka.
- 6) Data hasil observasi luka sayat pada tikus selama 14 hari kemudian dianalisis dan diberi pembahasan, dari hasil analisis kemudian dibuat kesimpulan hasil penelitian.

3.6 Metode Pengumpulan Data

3.6.1 Teknik Pengumpulan Data

Teknik pengumpulan data pada penelitian ini menggunakan observasi di laboratorium, data yang dihasilkan berupa angka hasil pengukuran panjang luka sayat di punggung tikus selama 14 hari dan data berapa lama waktu hilangnya eritema, edema, granulasi, dan waktu yang dibutuhkan untuk luka menutup.

3.6.2 Instrumen Penelitian

Data yang dicantumkan merupakan rata-rata selama 14 hari. Bentuk lembar pengumpulan data panjang luka ditunjukkan pada Tabel 3.4.

Tabel 3.4 Rata-rata panjang luka sayat (selama 14 hari) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*)

No.	Perlakuan	Ulangan ke-					Total	Rerata
		1	2	3	4	5		
1	Gel daun kersen 10%							
2	Gel daun kersen 30%							
3	Gel daun kersen 50%							
4	Kontrol positif (<i>Betadine</i> 10%)							
5	Kontrol negatif							

Bentuk lembar observasi mengenai pengamatan makroskopis dikumpulkan pada luka sayat tikus putih ditunjukkan pada Tabel 3.5. Tiap kategori yang diamati diberi kode seperti: a (eritema), b (edema), c (granulasi), d (Luka menutup/terdapat jaringan parut).

Tabel 3.5 Data observasi penyembuhan luka sayat fase inflamasi, proliferasi dan maturasi

Perlakuan	Ulangan	Hari													
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Konsentrasi 10%	1														
	2														
	3														
	4														
	5														
Konsentrasi 30%	1														
	2														
	3														
	4														
	5														
Konsentrasi 50%	1														
	2														
	3														
	4														
	5														
Kontrol Positif (Betadine)	1														
	2														
	3														
	4														
	5														
Kontrol Negatif	1														
	2														
	3														
	4														
	5														

Keterangan pengisian tabel:

a: Eritema

b: Edema

c: Granulasi

d: Terdapat jaringan parut/luka menutup

Data hasil pengamatan makroskopis pada luka kemudian dihitung rata-rata berapa lama waktu hilangnya eritema, edema, granulasi dan waktu luka menutup. Rata-rata didapatkan dengan cara menghitung berapa hari eritema, edema, granulasi dan luka menutup muncul. Tabel perhitungan rata-rata untuk setiap pengamatan makroskopis dibuat seperti Tabel 3.6.

Tabel 3.6 Lama waktu hilangnya eritema (fase inflamasi) pada luka sayat tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah pemberian berbagai konsentrasi gel daun kersen (*Muntingia calabura*)

No.	Perlakuan	Lama waktu hilangnya eritema (hari)/Ulanagan ke-					Rerata (hari)
		1	2	3	4	5	
1	Konsentrasi 10%						
2	Konsentrasi 30%						
3	Konsentrasi 50%						
4	Kontrol Positif (<i>Betadine</i>)						
5	Kontrol Negatif						

Tabel 3.7 Lama waktu hilangnya edema (fase inflamasi) pada luka sayat tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah pemberian berbagai konsentrasi gel daun kersen (*Muntingia calabura*)

No.	Perlakuan	Lama waktu hilangnya edema (hari)/Ulanagan ke-					Rerata (hari)
		1	2	3	4	5	
1	Konsentrasi 10%						
2	Konsentrasi 30%						
3	Konsentrasi 50%						
4	Kontrol Positif (<i>Betadine</i>)						
5	Kontrol Negatif						

Tabel 3.8 Lama waktu hilangnya granulasi (fase proliferasi) pada luka sayat tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah pemberian berbagai konsentrasi gel daun kersen (*Muntingia calabura*)

No.	Perlakuan	Lama waktu hilangnya granulasi (hari)/Ulanagan ke-					Rerata (hari)
		1	2	3	4	5	
1	Konsentrasi 10%						
2	Konsentrasi 30%						
3	Konsentrasi 50%						
4	Kontrol Positif (<i>Betadine</i>)						
5	Kontrol Negatif						

Tabel 3.9 Lama waktu luka menutup (fase maturasi) pada luka sayat tikus putih (*Rattus norvegicus*) setelah pemberian berbagai konsentrasi gel daun kersen (*Muntingia calabura*)

No.	Perlakuan	Lama waktu luka menutup (hari)/Ulanagan ke-					Rerata (hari)
		1	2	3	4	5	
1	Konsentrasi 10%						
2	Konsentrasi 30%						
3	Konsentrasi 50%						
4	Kontrol Positif (Betadine)						
5	Kontrol Negatif						

3.7 Teknik Analisis Data

Data yang diperoleh kemudian dianalisis secara statistik. Teknik analisis data yang digunakan dalam penelitian ini meliputi beberapa uji, antara lain: uji normalitas dengan menggunakan uji normalitas *One Sample Kolmogorov-Smirnov*; uji homogenitas; selanjutnya dilakukan uji *one – away ANOVA* untuk menjawab rumusan masalah yang pertama dengan taraf signifikan $\alpha < 0,05$ sehingga diketahui adakah pengaruh dari perlakuan yang diberikan; dan dilanjutkan dengan uji Duncan untuk mengetahui beda nyata antar perlakuan. Pengambilan keputusan pada uji *one – away ANOVA* dilakukan berdasarkan nilai probabilitas yaitu jika nilai Sig. $> 0,05$ maka H_0 diterima dan H_1 ditolak, namun jika nilai Sig. $< 0,05$ maka H_0 ditolak dan H_1 diterima.

Apabila data yang akan dianalisis tidak berdistribusi normal dan homogen maka digunakan uji statistik nonparametrik dengan uji Kruskal-Wallis. Uji ini digunakan sebagai alternatif apabila uji *one – away ANOVA* tidak dapat dilakukan karena data yang tidak berdistribusi normal dan tidak homogen. Program yang digunakan untuk menganalisis data hasil penelitian adalah SPSS.